

**New 5-lipoxygenase inhibiting lignan cpds. - prepd. by extracting fruit of Schisandra chinensis Baillon with lower hydrocarbon solvent etc.**

**Patent Number : JP01172355**

*International patents classification : A61K-031/09 C07C-043/23*

**• Abstract :**

JP01172355 A Lignans of formula (I) are new (where R1 and R2 are OH or OMe).

(I) may be prepd. by extracting the fruits of Schisandra chinensis Baillon with a lower hydrocarbon solvent (e.g. petroleum ether, n-hexane, benzene) or alcohol under warming, applying the extract to silica gel column chromatography (eluted with n-hexane, benzene, ether, EtOAc, acetone, EtOH, or MeOH), then applying the eluate to TLC, and then applying the isolated fraction to HPLC on an ODS-silica gel column (developed with MeCN, MeOH, EtOH, THF, or water).

USE/ADVANTAGE - (I) inhibit 5-lipoxygenase and are useful in treatment of inflammation. The 5-lipoxygenase-inhibiting activity of (I) is confirmed by inhibition of generation of hydroxyeicosapentaenoic acid from arachidonic acid. For example, (I) (R1=OH, R2=OMe) shows 55.6% of the inhibition rate at 100 micro-M/ml, and (I) (R1=OMe, R2=OH) does 53.2%. (0/0)

**• Publication data :**

Patent Family : JP01172355 A 19890707 DW1989-33 6p \* AP:

1987JP-0327390 19871225

Priority n° : 1987JP-0327390 19871225

Covered countries : 1

Publications count : 1

**• Patentee & Inventor(s) :**

Patent assignee : (TSUR ) TSUMURA & CO

**• Accession codes :**

Accession N° : 1989-237720 [33]

Sec. Acc. n° CPI : C1989-105990

**• Derwent codes :**

Manual code : CPI: B08-D03 B12-D07  
B12-G01B1

Derwent Classes : B05

Compound Numbers : 8933-18501-N

**• Update codes :**

Basic update code : 1989-33

**BEST AVAILABLE COPY**

10 PAGE BLANK (USPTO)

⑬ 日本国特許庁(JP)

⑭ 特許出願公開

⑯ 公開特許公報(A)

平1-172355

⑮ Int. Cl.<sup>4</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑰ 公開 平成1年(1989)7月7日

C 07 C 43/23  
// A 61 K 31/09

ABE  
AED

C-7419-4H

審査請求 未請求 発明の数 1 (全6頁)

⑱ 発明の名称 新規リグナン類

⑲ 特 願 昭62-327390

⑳ 出 願 昭62(1987)12月25日

㉑ 発 明 者	池 谷	幸 信	茨城県稲敷郡阿見町吉原3586	株式会社津村順天堂内
㉒ 発 明 者	金 谷	裕 敏	茨城県稲敷郡阿見町吉原3586	株式会社津村順天堂内
㉓ 発 明 者	佐 藤	俊 次	茨城県稲敷郡阿見町吉原3586	株式会社津村順天堂内
㉔ 発 明 者	三 橋	博	茨城県稲敷郡阿見町吉原3586	株式会社津村順天堂内
㉕ 出 願 人	株 式 会 社	ツ ム ラ	東京都中央区日本橋3丁目4番10号	

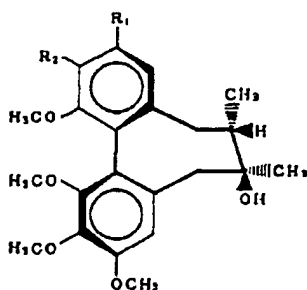
#### 明 細 書

##### 1. 発明の名称

新規リグナン類

##### 2. 特許請求の範囲

下記式 I



(但し、R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>は水酸基またはメトキシル基を示す)で表される新規リグナン類。

##### 3. 発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

本発明は抗炎症剤として有用である5-リボキシゲナーゼ阻害作用を有する新規リグナンに関するものである。

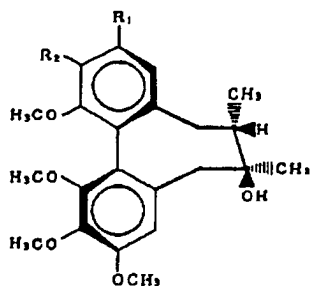
##### 〔従来の技術および問題点〕

最近、炎症性疾患に対する数々の薬剤が開発されているが、その中でも特に注目を浴びているのが5-リボキシゲナーゼ阻害作用を有する薬剤であり、現在、この5-リボキシゲナーゼを阻害する薬物(ベンゾキノロン誘導体等)が数々報告されているが、いずれも臨床における治療効果の期待できるものではない。

##### 〔問題点を解決するための手段〕

本発明者等は抗炎症作用に効果のある物質を見い出すべく、和漢薬に含まれる成分を抽出分離し、それぞれの成分の5-リボキシゲナーゼ阻害作用を検討した結果、下記式 I で表されるリグナンを見だし本発明を完成させた。

すなわち本発明は、下記式 I

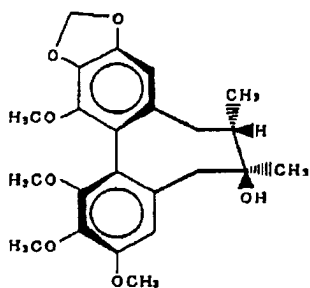


I

(但し、 $R_1$ および $R_2$ は水酸基又はメトキシ基を示す)で表される新規リグナン類に関するものである。

式Iの化合物は例えば次のような方法により得ることができる。

五味子(チョウセンゴミシ、*Schisandra chinensis* Baillonの果実)を低級炭化水素類(例えば、石油エーテル、*n*-ヘキサン、ベンゼン等)、またはアルコール類で温時抽出し、得られた抽出液の溶媒を留去した残渣をシリカゲルクロマトグラフィーに付し、*n*-ヘキサン、ベンゼン、エーテル、酢酸エチル、アセトン、エタノール、メタノールより選ばれる少なくとも一つの溶媒を用いて展開することにより得ることができる。



II

原料となる式IIの化合物は五味子を低級炭化水素類(例えば石油エーテル、*n*-ヘキサン、ベンゼン等)で温時抽出し、得られた抽出液の溶媒を留去して得た残渣を水に溶かし、水蒸気蒸留を行い、精油を除いた非精油部分をシリカゲルクロマトグラフィーに付し、*n*-ヘキサン、ベンゼン、エーテル、酢酸エチル、アセトンより選ばれる少なくとも一つの溶媒を用いて展開することにより得ることができる。

この式IIの化合物の製造の具体例を示すと以下のごとくである。

ールより選ばれる少なくとも一つの溶媒を用いて展開し、溶出液を分取薄層クロマトグラフィーに付し、分画し、得られた画分を更にODS系シリカゲルのカラムを用いた高速液体クロマトグラフィーに付し、アセトニトリル、メタノール、エタノール、テトラヒドロフラン、水より選ばれる少なくとも一つの溶媒で展開することにより得ることができる。

また、下記式IIの化合物を四酢酸鉛と反応させることにより得られる化合物を一般的なメチル化剤(例えばジメチル硫酸、ヨウ化メチル、ジアゾメタン等)でメチル化することによっても得ることができる。

#### 具体例

五味子1.38kgを粉砕したものを石油エーテル3ℓで8時間還流抽出し、これを4回繰り返した後、得られた抽出液を合併し、石油エーテルを減圧下で留去し、石油エーテルエキス188gを得た。該石油エーテルエキスを水450mlに懸濁し、水蒸気蒸留を3時間行い精油を除去し、残渣をエーテル200mlで4回抽出した後、エーテル抽出液を合併、エーテルを留去し石油エーテル可溶の非精油部分179g(A画分という)を得た。

次に石油エーテルで抽出して得た五味子の抽出残渣をメタノール3ℓにて8時間ずつ3回温時抽出した後、得られたメタノール抽出液を合併、溶媒留去し、メタノールエキス383gを得た。該メタノールエキスを水580mlに溶解し、酢酸エチル850mlで3回振盪抽出し、得られた酢酸エチル抽出液を合併、減圧下で溶媒留去し、酢酸エチルエキス78gを得た。該酢酸エチルエキスをメタノールに溶解し、セラライト535(Johns-Manville社製)300gにまぶし、カラムクロマト

グラフィーに付し、*n*-ヘキサン2ℓで展開し、溶出液を減圧下で溶媒留去し、20.8gのエクス(B画分という)を得た。

A画分17.9gとB画分20.8gを合併し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、最初*n*-ヘキサン、2番目にベンゼン、3番目にベンゼン・アセトン混合溶剤で展開した。ベンゼン・アセトン(4:1)とベンゼン・アセトン(3:1)の溶出部を合併、溶媒留去し、23.5gの残液を得、該残液を再びシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、ベンゼン・エーテル混合溶媒で展開した。

ベンゼン・エーテル(4:1)の溶出部をメタノールで結晶化して白色結晶3.04g(収率0.22%)を得た。文献[田口ら、Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), 23巻, 3296, 1975年、田口ら、Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), 25巻, 364, 1977年]記載の理化学的性質と比較して式IIの化合物と同一とした。

次に式Iの化合物が優れた5-リボキシゲナーゼ阻害作用を有し、炎症剤として有用であるこ

・Hydroxyeicosapentaenoic acid)の量を高速液体クロマトグラフィー[カラム:TSK-gel ODS80TM (TOYO SODA):移動相:アセトニトリル・水・酢酸(60:40:0.02):流速:1ℓ/分;検出:紫外線(236nm)]により測定し、これを酵素活性とした。

この結果について阻害率を次式により算出した。

$$\text{阻害率} = \frac{C - S}{C} \times 100 (\%)$$

C:具体例で得た化合物を含まない場合の5-HETEのピーク面積(内部標準により補正)

S:具体例で得た化合物を含む場合の5-HETEのピーク面積(内部標準により補正)

これより具体例で得た化合物の阻害率を以下の第1表に示す。

第1表

終濃度100μM/ℓにおける5-リボキシゲナーゼ阻害率(%)

化合物名	阻害率(%)
実施例1で得た化合物	55.6
実施例2で得た化合物	53.2

とについて実験例を挙げて説明する。

#### 実験例

RBL-1培養細胞を $5 \times 10^4$ 細胞/ℓとなるよう1mMEDTAおよび10%エチレングリコールを含む50mM、pH7.4のリン酸緩衝液に浮遊し、超音波処理後、 $10,000 \times G$ 、10分間; $105,000 \times G$ 、60分間遠心した上清を5-リボキシゲナーゼ酵素標品とした。

反応は全量を0.6ℓとし、50mMリン酸緩衝液、15mM塩化カルシウム、20mMインドメタシン、18mMグルタチオン、6mMATP [ $^{14}C$ ]-アラキドン酸、そして上記のようにして得た酵素標品および製造例で得た100μMの化合物のエタノール溶液を試験管にとり、37℃、10分間反応させた。反応終了後、アセトン1.2ℓ、2Nギ酸100ℓを加えて反応を停止した後、内部標準として0.25M *n*-ブチル-3,5-ジニトロ安息香酸ブチル10ℓを添加し、*n*-ヘキサン1.8ℓで抽出した。得られた抽出液を溶媒留去し、メタノールにて再可溶させ、この中の5-HETE(5

以上より式Iの化合物の5-リボキシゲナーゼ阻害作用が確認された。

次に実施例をあげて本発明を詳細に説明するが、本発明はこれによりなんら制限されるものではない。

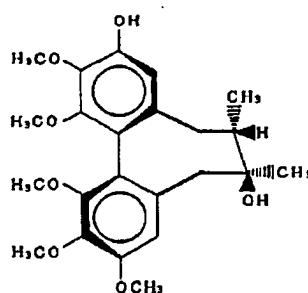
#### 実施例1

式IのR<sub>1</sub>が水酸基であり、R<sub>2</sub>がメトキシル基である化合物は次のようにして得ることができる。

五味子10kgを粉碎したものを石油エーテル40ℓで7時間還流抽出し、抽出残渣を再度石油エーテル40ℓで還流抽出した。得られた2つの抽出液を合併し、石油エーテルを減圧下で留去し、石油エーテルエキス1383gを得た。該石油エーテルエキスを690gずつ2回に分け、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(メルク社製キーゼルゲル60, 70-230メツシユ、以下同じ)に付し、ベンゼンとアセトンの混合溶媒でアセトンの比率を順次上げて溶出した。ベンゼン・アセトン(80:20)、(75:25)、(70:30)、および(30:70)で溶出したフラクションを

合併、溶媒留去し、残渣30.2gを得、これを再度シリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、n-ヘキサン-アセトン(80:20)で溶出したフラクションを合併、溶媒留去し、残渣4.91gを得た。該残渣を分取薄層クロマトグラフィー[プレート、メルク社製キーゼルゲル 60F<sub>254</sub>;展開溶媒、n-ヘキサン-酢酸エチル(1:2)]に付し、Rf値0.62を示す部分を剥離し、クロロホルム-メタノール(4:1)で抽出した。得られた抽出液より溶媒を留去して得た残渣をさらに分取薄層クロマトグラフィー[プレート、メルク社製キーゼルゲル 60F<sub>254</sub>;展開溶媒、クロロホルム-エタノール(19:1)]に付し、Rf値0.47を示す部分を剥離し、クロロホルム-メタノール(4:1)で抽出した。得られた抽出液より溶媒を留去して得た残渣をさらに高速液体クロマトグラフィー[カラム、YMC Pack S-345 I-15 ODS(径2cm,長さ250mm);移動相、アセトニトリル-メタノール-水(11:11:18);流速、5ml/分;温度、室温;検出、紫外線254nm]に付し、保持時間

3.4分の化合物を含む溶出液を合併、溶媒留去し、白色粉末24mgを得た。この白色粉末は以下に示す理化学的性質より下記の構造式を有する(6S, 7S, R-biar)-5,6,7,8-テトラヒドロ-1,2,10,11,12-ペンタメトキシ-6,7-ジメチル-3,7-ジベンゾ[a,c]シクロオクテンジオールと決定した。



性状：白色粉末

比旋光度： $[\alpha]_D^{25} + 6.0^\circ$

( $c = 0.50$ , CHCl<sub>3</sub>)

マススペクトル (EI-MS)

m/z(%): 418 (M<sup>+</sup>, 100),

400 (6.2), 375 (14),

347 (11), 344 (21)

高分解能マススペクトル C<sub>28</sub>H<sub>30</sub>O<sub>7</sub> (M<sup>+</sup>):

計算値: 418.1990

実測値: 418.1996

赤外線吸収スペクトル  $\nu_{max}^{KBr}$  cm<sup>-1</sup>:

3436, 1584, 1120,

1092

紫外線吸収スペクトル  $\lambda_{max}^{MeOH}$  nm (log ε):

215 (4.61), 251 (4.08),

288 (sh, 3.39)

プロトン核磁気共鳴スペクトル

( $\delta$  ppm in CDCl<sub>3</sub>):

0.82 (3H, d, J = 7 Hz),

1.26 (3H, s),

1.88 (1H, s, 重水添加で消失),

2.34 (1H, dd, J = 14.8 Hz),

2.37 (1H, d, J = 13.5 Hz),

2.61 (1H, dd, J = 14.2 Hz),

2.68 (1H, d, J = 13.5 Hz),

3.55 (3H, s), 3.56 (3H, s),

3.90 (3H, s), 3.91 (3H, s),

3.92 (3H, s),

5.76 (1H, brs, 重水添加で消失),

6.62 (1H, s), 6.63 (1H, s)

炭素核磁気共鳴スペクトル ( $\delta$  ppm in CDCl<sub>3</sub>):

15.8 (q), 29.8 (q), 34.0 (t),

40.9 (t), 41.9 (d), 56.0 (q),

60.1 (q), 60.6 (q), 60.9 (q),

61.0 (q), 71.9 (s),

110.2 (d), 113.1 (d),

122.0 (s), 124.1 (s),

132.1 (s), 134.6 (s),

137.8 (s), 140.9 (s),

147.8 (s), 150.4 (s),

152.1 (s), 152.4 (s)

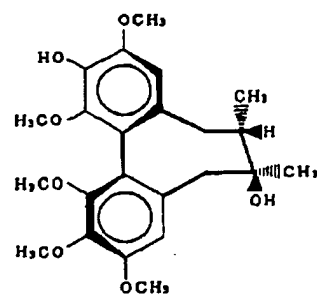
実施例2

式IのR<sub>1</sub>がメトキシ基であり、R<sub>2</sub>が水酸基

である化合物は次のようにして得ることができる。

具体例で得た式IIの化合物3.8gと四酢酸鉛6gを乾燥ベンゼン60mlに溶解し、50℃で7時間攪拌した。反応混合物を酢酸エチルで希釈し、水洗し、硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧乾燥した。得られた残渣を80%酢酸50mlに溶解し、室温で2時間攪拌した。反応混合物をエーテルで希釈し、5%炭酸水素ナトリウム、次いで水で洗い、硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧乾燥した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、n-ヘキサンとアセトンの混合溶媒で溶出した。n-ヘキサン-アセトン(60:40)で溶出したフラクションを合併し、溶媒を留去して得た残渣をエーテルから再結晶し、淡褐色プリズム晶825mgを得た。このプリズム晶250mgを乾燥アセトン5mlに溶解し、ジメチル硫酸0.3mlと炭酸カリウム300mgを加えた。反応液を室温で7時間攪拌した後、エーテルで希釈した。得られたエーテル溶液を水洗し、硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧乾燥した。得られた残渣を分取層用クロ

マトグラフィー[プレート、メルク社製キーゼルゲル60F<sub>254</sub>；展開溶媒、n-ヘキサン-アセトン(7:3)]に付し、Rf値0.32を示す部分を剥離し、クロロホルム-メタノール(4:1)で抽出した。得られた抽出液より溶媒を留去し、白色粉末1mgを得た。この白色粉末は以下に示す理化学的性質より下記の構造式を有する(6S,7S,R-biar)-5,6,7,8-テトラヒドロ-1,3,10,11,12-ヘプタメトキシ-6,7-ジメチル-2,7-ジベンゾ[a,c]シクロオクテンジオールと決定した。



性状：白色粉末

比旋光度： $[\alpha]_D^{25} + 88.3^\circ$

性状：白色粉末

比旋光度： $[\alpha]_D^{25} + 88.3^\circ$

( $c = 1.36$ , CHCl<sub>3</sub>)

マススペクトル (EI-MS)

m/z(%): 418 (M<sup>+</sup>, 100),  
375 (6.7), 347 (25),  
344 (12), 334 (19)

高分解能マススペクトル C<sub>22</sub>H<sub>30</sub>O<sub>7</sub> (M<sup>+</sup>):

計算値: 418.1992

実測値: 418.1995

赤外線吸収スペクトル  $\nu_{max}^{KBr}$  cm<sup>-1</sup>:

3432, 1598

紫外線吸収スペクトル  $\lambda_{max}^{MeOH}$  nm (log  $\epsilon$ ):

216 (4.59), 255 (4.03),

288 (sh, 3.50)

プロトン核磁気共鳴スペクトル

( $\delta$  ppm in CDCl<sub>3</sub>):

0.82 (3H, d, J = 7 Hz),

1.27 (3H, s), 1.87 (1H, m),

1.87 (1H, s, 重水添加で消失),

2.36 (1H, dd, J = 13.5, 8 Hz),

2.38 (1H, d, J = 13.5 Hz),

2.66 (1H, dd, J = 13.5, 2 Hz),

2.69 (1H, d, J = 13.5 Hz),

3.43 (3H, s), 3.54 (3H, s),

3.90 (6H, s), 3.91 (3H, s),

5.61 (1H, brs, 重水添加で消失),

6.55 (1H, s), 6.64 (1H, s)

炭素核磁気共鳴スペクトル

( $\delta$  ppm in CDCl<sub>3</sub>):

15.8 (q), 29.9 (q), 33.9 (t),

40.8 (t), 41.9 (d), 56.1 (q),

56.2 (q), 60.3 (q), 60.7 (q),

61.0 (q), 71.9 (s),

110.2 (d), 110.3 (d),

122.0 (s), 124.0 (s),

129.5 (s), 132.0 (s),

136.4 (s), 141.1 (s),

145.2 (s), 146.3 (s).

特開平1-172355(6)

152.0(s). 152.6(s)

特許出願人 株式会社 津村順天堂

代表者 津 村 昭

